

2

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2003-50245

(P2003-50245A)

(43) 公開日 平成15年2月21日 (2003.2.21)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テームコード* (参考)
G 0 1 N 37/00		G 0 1 N 37/00	2 G 0 4 2
	1 0 1		1 0 1 4 B 0 2 9
C 1 2 M 1/00		C 1 2 M 1/00	A
G 0 1 N 31/20		G 0 1 N 31/20	
33/53		33/53	M

審査請求 未請求 請求項の数 5 O L (全 5 頁)

(21) 出願番号 特願2001-237650 (P2001-237650)

(22) 出願日 平成13年8月6日 (2001.8.6)

(71) 出願人 000003300

東ソー株式会社

山口県新南陽市開成町4560番地

(72) 発明者 石黒 敬彦

神奈川県横浜市港北区岸根町490-17

(72) 発明者 斉藤 寿一

神奈川県大和市桜森2-20-16-1-101

(72) 発明者 栗原 芳文

神奈川県海老名市中央2-11-20, 303

Fターム(参考) 2G042 FB02 HA03 HA10

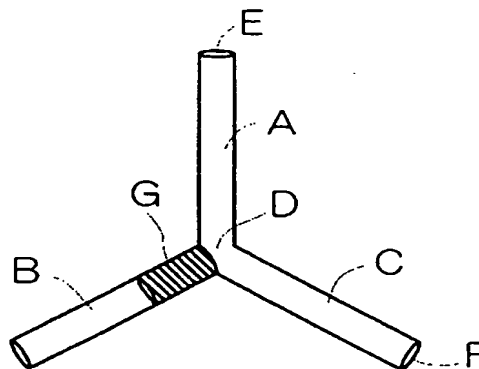
4B029 AA09 AA23 HA05

(54) 【発明の名称】 特定量の液体の輸送方法

(57) 【要約】

【課題】 高電圧およびバルブなどの特殊な駆動部品の組み込みを必要としない単純な特定量の送液方法を提供する。

【解決手段】 少なくとも3つのマイクロチャンネルが交差し、該マイクロチャンネルの少なくとも二つは開閉可能な開口部を有してなる送液路において、開口部の開閉および液体の輸送を制御された順番で実施することによって、導入された不特定量の液体の特定量のみを輸送する。



## 【特許請求の範囲】

【請求項1】任意の液体の特定量を輸送する方法であって、少なくとも3つのマイクロチャンネルが交差し、該マイクロチャンネルの少なくとも二つは開閉可能な開口部を有してなる送液路において、開口部の開閉および液体の輸送を制御された順番で行うことによって、導入された不特定量の液体の特定量を輸送することを特徴とする液体輸送方法。

【請求項2】任意の液体の特定量を輸送する方法であって、i)第一、第二、および第三のマイクロチャンネルが一個所で交差してなる、ii)第一および第三のマイクロチャンネルはそれぞれ開閉可能な第一および第三の開口部を有する、iii)前記交差部および第二のマイクロチャンネルは特定の容積の部分に有し、該特定容積部分に充填された液体量を規定する、ことからなる送液路において以下の操作からなる工程を行うことによって特定量の液体を輸送することを特徴とする請求項第一に記載の液体輸送方法。

(1)第一の開口部を開け、第三の開口部を閉じる、

(2)第一のマイクロチャンネルに任意の液体を導入し、液体の先端が前記特定容積の部分を満たすまで前記液体を輸送する、(3)第一の開口部を閉じ、第三の開口部を開ける、(4)前記第二のマイクロチャンネルの特定容積の部分に充填された液体を第三のマイクロチャンネルに輸送する。

【請求項3】任意の液体の特定量を輸送する方法であって、i)第一、第二、および第三のマイクロチャンネルが第一の交差部で交差してなり、さらに前記第二のマイクロチャンネルに第四のマイクロチャンネルおよび第五のマイクロチャンネルが第二の交差部で交差してなる、ii)前記第一、第三、第四、第五のマイクロチャンネルはそれぞれ開閉可能な第一、第三、第四、第五の開口部を有する、iii)前記第一の交差部、第二の交差部および第二のチャンネルが特定の容積を有し、該特定容積部分に充填された液体量を規定する、ことからなる送液路において以下の操作からなる工程を行うことによって特定量の液体を輸送することを特徴とする請求項第一に記載の液体輸送方法。

(1)第一および第五の開口部を開け、第三および第四の開口部を閉じる、(2)第一のマイクロチャンネルに任意の液体を導入し、前記特定容積の部分が満たされるように前記液体を輸送する、(3)第一および第五の開口部を閉じ、第三および第四の開口部を開ける、(4)前記特定容積の部分に充填された液体を第三のマイクロチャンネルに輸送する。

【請求項4】前記液体の輸送がマイクロチャンネル中に充填された気体あるいは液体の圧力を加減することによってなされることを特徴とする請求項1から3のいずれかに記載の液体輸送方法。

【請求項5】前記気体あるいは液体の圧力の加減がマイ

クロチャンネル中に磁性流体を導入し、該磁性流体に磁界を印加することによってなされることを特徴とする請求項4に記載の液体輸送方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、生化学および化学反応を微細な領域に集積化する場合の微少な特定量の送液方法に関するものであり、バイオテクノロジーおよび臨床診断分野で利用することができる。

## 【0002】

【従来の技術】現在、生化学および化学反応工程を微細な領域に集積化した分析システムはMicroscale total analysis systems ( $\mu$ TAS)と呼ばれ、その試みが数多く報告されている。これらは、ゲノム解析、ポストゲノム解析、薬剤スクリーニングおよびその他の臨床応用において極めて有効であると期待されている。反応工程を基材上に集積化する場合、マイクロチャンネル(1~1000 $\mu$ m)内で微少な液体(10<sup>-3</sup>~1000 $\mu$ L)を送液、制御することが要素技術として必須である。抗原抗体反応や核酸増幅法に代表される分析手段においては、特定量の試料および試薬を送液することが必要であるが、前記マイクロチャンネルに微少な特定量を導入、送液することは極めて困難であった。

【0003】微少な特定量を送液する代表的な技術としては、電気浸透流ポンプを用い、電極を切り替えることでフローを制御して特定量を送液する技術、およびバルブを組み込みこむことによって送液量を制御する技術などがあげられる。電気浸透流ポンプは高電圧をかけたキャピラリー内に発生する電気浸透流を利用したもので、構成が比較的単純で実施し易いのが特徴である。

## 【0004】

【発明が解決しようとする課題】しかし、電気浸透流ポンプは被輸送液体の物理化学的性質(たとえば、イオン強度やpHなど)の影響を受け易い。特に、イオン強度の高い液体を送液するのは困難であり、血液や尿といった生体由来試料を適用するのは難しいという課題がある。また、高電圧(1~30kV)を必要とするため、安全性や取り扱い易さについても課題があった。また、バルブを微小領域に集積化するのは容易ではなく、ミニチュア化の障壁となっている。

## 【0005】

【課題を解決するための手段】本発明は、デバイス上の微細な領域に反応工程を集積化する場合における従来技術の課題を解決した特定量の送液方法を提供する。すなわち、被輸送液体の物理化学的性質の影響を受けず、高電圧を使用せず、バルブなどの駆動部品の組み込みを必要としないミニチュア化に適した取り扱い易い特定量の送液方法を提供する。請求項1に記載した本発明は、任意の液体の特定量を輸送する方法であって、少なくとも

3つのマイクロチャンネルが交差し、該マイクロチャンネルの少なくとも二つは開閉可能な開口部を有してなる送液路において、開口部の開閉および液体の輸送を制御された順番で行うことによって、導入された不特定量の液体の特定量を輸送することを特徴とする。請求項2に記載した本発明は請求項1の発明に係り、任意の液体の特定量を輸送する方法であって、i) 第一、第二、および第三のマイクロチャンネルが一個所で交差し、ii) 第一および第三のマイクロチャンネルはそれぞれ開閉可能な第一および第三の開口部を有する、iii) 前記交差部および第二のマイクロチャンネルに特定の容積の部分に有し、該特定容積部分に充填された液体量を規定する、ことからなる送液路において、(1) 第一の開口部を開け、第三の開口部を閉じる、(2) 第一のマイクロチャンネルに任意の液体を導入し、液体の先端が前記特定容積の部分に満たすまで前記液体を輸送する、(3) 第一の開口部を閉じ、第三の開口部を開ける、(4) 前記第二のマイクロチャンネルの特定容積の部分に充填された液体を第三のマイクロチャンネルに輸送する工程からなることを特徴とする。請求項3に記載した本発明は請求項1の発明に係り、任意の液体の特定量を輸送する方法であって、i) 第一、第二、および第三のマイクロチャンネルが第一の交差部で交差し、さらに前記第二のマイクロチャンネルに第四のマイクロチャンネルおよび第五のマイクロチャンネルが第二の交差部で交差し、ii) 前記第一、第三、第四、第五のマイクロチャンネルはそれぞれ開閉可能な第一、第三、第四、第五の開口部を有する、iii) 前記第一の交差部および第二の交差部を両端とする第二のチャンネルが特定の容積を有し、該特定容積部分に充填された液体量を規定する、ことからなる送液路において(1) 第一および第五の開口部を開け、第三および第四の開口部を閉じる、(2) 第一のマイクロチャンネルに任意の液体を導入し、前記特定容積の部分に満たされるように前記液体を輸送する、(3) 第一および第五の開口部を閉じ、第三および第四の開口部を開ける、(4) 前記特定容積の部分に充填された液体を第三のマイクロチャンネルに輸送する工程からなることを特徴とする。請求項4に記載した本発明は請求項1から3のいずれかの発明に係り、前記液体の輸送がマイクロチャンネル中に充填された気体あるいは液体の圧力を加減することによってなされることを特徴とする。請求項5に記載した本発明は請求項4の発明に係り、前記気体あるいは液体の圧力の加減がマイクロチャンネル中に磁性流体を導入し、該磁性流体に磁界を印加することによってなされることを特徴とする。以下に本発明を詳細に説明する。

【0006】本発明中のマイクロチャンネルとは幅1〜1000 $\mu$ mの構造体であり、光リソグラフィなどの既知の技術によって所望の基材上に構築することができる。また、ガラスキャピラリーのような細管であっても

良い。マイクロチャンネルは必要に応じて任意の容量のチャンバーと連結させることもできる。

【0007】本発明の一態様としては、i) 第一(図1A)、第二(図1B)、および第三のマイクロチャンネル(図1C)が一個所(図1D)で交差し、ii) 第一および第三のマイクロチャンネルはそれぞれ開閉可能な第一(図1E)および第三の開口部(図1F)を有する、iii) 前記交差部および第二のマイクロチャンネルは特定の容積の部分(図1G)を有し、該特定容積部分に充填された液体の特定量を規定する、ことからなる送液路において、

(1) 第一の開口部を開け、第三の開口部を閉じる。

(2) 第一のマイクロチャンネルに任意の液体を導入し、液体の先端が前記特定容積の部分に満たすまで前記液体を輸送する。該液体は分析のための試薬および/あるいは試料で有り得、分析に用いるために十分量であれば不特定量でかまわない。なお特定容積は分析方法の条件に応じて適切に設定することができる。

(3) 第一の開口部を閉じ、第三の開口部を開ける。

(4) 前記第二のマイクロチャンネルの特定容積部分に充填された液体を第三のマイクロチャンネルに輸送する。

以上の工程を順次行うことによって、特定容積部分で規定された特定量の液体を輸送することができる。前記工程における開口部の形状は特に限定するものでなく、該開口部の位置も送液の妨げにならない場所ならば任意に設定できる。前記開口部の開閉方法についても特に限定するものではないが、適当なバックグランド手段を施した板をスライドさせて行うことが可能である。また、前記工程における液体の輸送はマイクロチャンネル内に充填された気体あるいは液体の圧力を加減することによって実施可能である。該気体あるいは液体の圧力を加減する方法は特に限定しないが、マイクロチャンネル中に磁性流体を導入し、該磁性流体に磁界を印加することによって行うことも可能である。磁性流体とは液体中に強磁性微粒子を安定に分散させたものであり、強磁性微粒子、溶媒、および分散方法については特に限定しないが、微粒酸化鉄( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 、粒径約10nm)を界面活性剤で分散させたものが好ましい。該磁性流体の一例としては市販のAPG832、EXP96009、EXP96008(株式会社フェローテック社製)などが使用可能である。前記磁界を印加させる方法は特に限定しないが、電磁石あるいは永久磁石を用いて磁界を相対的に移動させる方法などがあげられる。電磁石を用いる場合は磁気アレイ素子を送液路に沿って設ける方法も可能である。

【0008】本発明の別の態様としては、i) 第一(図2A)、第二(図2B)、および第三のマイクロチャンネル(図2C)が第一の交差部(図2D)で交差し、さらに前記第二のマイクロチャンネルに第四のマイクロチャンネル(図2E)および第五のマイクロチャンネル

ネル(図2F)が第二の交差部(図2G)で交差してなり、(i i)前記第一、第三、第四、第五のマイクロチャンネルはそれぞれ開閉可能な第一(図2H)、第三(図2I)、第四(図2J)、第五の開閉部(図2K)を有する、(i i i)前記第一の交差部および第二の交差部を両端とする第二のチャンネルが特定の容積を有し、該特定容積部分(図2L)に充填された液体の特定量を規定する、ことからなる送液路において、

(1)第一および第五の開閉部を開け、第三および第四の開閉部を閉じる。

(2)第一のマイクロチャンネルに任意の液体を導入し、前記特定容積の部分が満たされるように前記液体を輸送する。該液体は分析のための試薬および/あるいは試料で有り得、分析に使用するために十分量であれば不特定量で構わない。また、過剰な液体が第五のマイクロチャンネルに流入しても構わない。

(3)第一および第五の開閉部を閉じ、第三および第四の開閉部を開ける。

(4)前記特定容積の部分に充填された液体を第三のマイクロチャンネルに輸送する。

【0009】

【発明の効果】以上の工程を行うことによって特定容積部分によって規定された特定量の液体を輸送することができる。さらに、これらの系を組み合わせることによって、複数の特定量かつ微量の液体を輸送、混合させることが可能である。すなわち、本発明は、抗原抗体反応や核酸増幅反応に代表される分析手段を任意の基材上にミニチュア化、集積化するための特定量の液体輸送方法として有効である。

【0010】

【発明の実施形態】以下に本発明を実施例により更に詳細に説明するが、本発明はこれら実施例により限定されるものではない。

【0011】実施例1 2種の水溶液の特定量送液使用したマイクロチャンネルのパターンを図3に示した。ポリ塩化ビニル基材上に、マイクロチャンネル

(1、2、3、4、5、6、7:幅0.5mm、深さ0.5mm)および開口部(8、9、10、11、12:径5mm、深さ2mm)からなるパターンを作製した。磁石はネオジ磁石(13、12×7×4mm角形、表面磁束密度3500G)を用いた。また、開口部の開閉は、開口部上でガラス板を横にスライドさせて行った。ガラス板にはシリコングリースを塗布し、密着性を向上させた。

(i)開口部10および11から磁性流体(EXP96008、株式会社フェローテック社製)を導入した。

(i i)磁石13を右方向に移動させ、磁性流体をマイクロチャンネル3、4に導入した。開口部8、9に5μlの10mM Tris・HCl(pH7.9)、0.15M NaCl、5%ウシ血清アルブミン(以後TBS-BSAとする)を導入した。

(i i i)開口部12を閉じ、磁石13を左方向に移動させ、TBS-BSAをマイクロチャンネル3、4内に長さにして8mm(特定容積部分:容量2μl)だけ導入させた。

(i v)開口部8、9を閉じ、開口部12を開けた。磁石13を右方向に移動させることによって特定容積部分(容量2μl)に充填されたそれぞれのTBS-BSAはマイクロチャンネル5、6に輸送された。

(v)引き続きいて磁石13を右方向に移動させることによって、それぞれのTBS-BSAはマイクロチャンネル7で混合され、開口部12に輸送された。その結果、4μlのTBS-BSAが開口部12で回収された。

【0012】以上の結果から、本発明の方法により、単純な構成でありながら、マイクロチャンネル中で微量な特定量の液体を輸送することが可能となった。

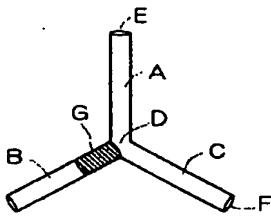
【図面の簡単な説明】

【図1】特定量送液の原理を示した。Aは第一のマイクロチャンネル、Bは第二のマイクロチャンネル、Cは第三のマイクロチャンネル、Dは交差部、Eは第一の開口部、Fは第三の開口部、Gは特定容積部分を示す。

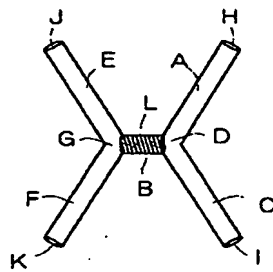
【図2】特定量送液の別態様の原理を示した。Aは第一のマイクロチャンネル、Bは第二のマイクロチャンネル、Cは第三のマイクロチャンネル、Dは第一の交差部、Eは第四のマイクロチャンネル、Fは第五のマイクロチャンネル、Gは第二の交差部、Hは第一の開口部、Iは第三の開口部、Jは第四の開口部、Kは第五の開口部、Lは特定容積部分を示す。

【図3】塩ビ基材上に構成したマイクロチャンネルのパターンを示した。1、2、3、4、5、6、7はそれぞれマイクロチャンネル(幅0.5mm、深さ0.5mm)を示す。8、9、10、11、12は開口部(径5mm、深さ2mm)を示す。13は磁石、14は導入された磁性流体、15は導入された10mM Tris・HCl(pH7.9)、0.15M NaCl、5%ウシ血清アルブミン(TBS-BSAとする)を示す。図中表には各工程における開口部の開閉状態を示した。

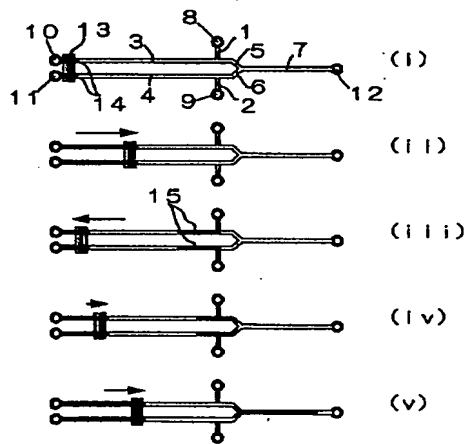
【図1】



【図2】



【図3】



開口部の開閉状態				
開口部 8	開口部 9	開口部 10	開口部 11	開口部 12
開	開	開	開	開
開	開	開	開	開
開	開	開	開	開
開	開	開	開	開
開	開	開	開	開